



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2012/2013

Nídia Teixeira Ramos
Genética e incontinência urinária de
esforço feminina

março, 2013

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Nídia Teixeira Ramos
Genética e incontinência urinária de
esforço feminina

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Urologia

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Doutor Paulo Dinis dos Santos Oliveira**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Arquivos de Medicina**

março, 2013

FMUP

Eu, Nídia Teixeira Ramos, abaixo assinado, nº mecanográfico 070801134, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 03 / 04 / 2013

Assinatura: Nídia Teixeira Ramos

Nome: Nídia Teixeira Ramos

Email: nidia_ramos_@hotmail.com

Título da Monografia: Genética e incontinência urinária de esforço feminina

Orientador: Paulo Dinis dos Santos Oliveira

Ano de conclusão: 2013

Designação da área do projeto: Urologia

É autorizada a reprodução integral desta Monografia para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

- Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 03 / 04 / 2013

Assinatura: Nídia Teixeira Ramos

Genética e incontinência urinária de esforço feminina

Nídia Teixeira Ramos

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Rua da Portela, 468 2º esquerdo, Meadela

4900-786 Viana do Castelo

914500465

nidia_ramos_@hotmail.com

Agradecimentos: Ao Professor Doutor Paulo Dinis, pelo carinho, dedicação e empenho na orientação da elaboração desta tese de mestrado.

Resumo: 235 palavras

Abstract: 228 palavras

Texto Principal: 5644 palavras

RESUMO

A incontinência urinária de esforço (IUE) é muito prevalente entre a população feminina, afetando a qualidade de vida das mulheres. Apesar da sua fisiopatologia não estar totalmente esclarecida, há vários fatores de risco reconhecidos. Os dados atuais sugerem a existência de um componente familiar no desenvolvimento da IUE. As pesquisas existentes suportam a hipótese de que as mulheres com predisposição genética para a IUE apresentam alterações intrínsecas no metabolismo da matriz extracelular (MEC), levando à destruição da arquitetura normal dos tecidos e às suas propriedades mecânicas. De facto, vários estudos demonstraram uma diminuição nos níveis de colagénio e de elastina nos tecidos pélvicos destas pacientes, assim como têm sido descritos genes candidatos e polimorfismos envolvidos na expressão de proteínas da MEC, como contribuintes para a patogénese desta doença. É necessária uma compreensão mais clara da fisiopatologia responsável pela IUE, uma vez que iria permitir a identificação da população em risco e o desenvolvimento de terapias de intervenção onde poderia ser possível modificar localmente a maturação e a remodelação da MEC. Atualmente, a implantação ou a injeção de material estranho no trato urinário inferior, para o tratamento da IUE, pode causar efeitos adversos graves. No futuro, o ideal seria desenvolver um esqueleto biocompatível e reabsorvível com propriedades mecânicas adequadas, em que as células estaminais seriam capazes de contribuir para a regeneração dos tecidos através da proliferação e diferenciação em miofibroblastos com formação de tecido conjuntivo apropriado.

Palavras-Chave: incontinência urinária de esforço; fatores genéticos; matriz extracelular; colagénio; elastina.

ABSTRACT

The stress urinary incontinence (SUI) is very prevalent among the female population, affecting the quality of life of women. Despite not being fully understood, there are several recognized risk factors involved in its pathophysiology. Current data suggest the existence of a familial component in the development of SUI. The studies support the hypothesis that women with SUI genetic predisposition exhibit intrinsic changes in the metabolism of extracellular matrix (ECM) leading to the destruction of normal tissue architecture and mechanical properties. In fact, several studies have demonstrated decreased levels of collagen and elastin in these patients' pelvic tissues, as well as candidate genes and polymorphisms have been involved in the expression of ECM proteins, as contributing to the pathogenesis of this disease. A clearer understanding of the pathophysiology responsible for SUI is needed, as this would allow the identification of the population at risk and the development of interventional therapies where it could be possible to modify locally maturation and remodeling of the ECM. Currently, the injection or implantation of foreign material in the lower urinary tract, for the treatment of SUI can cause serious adverse effects. In the future, it would be ideal to develop a biocompatible and resorbable scaffold with suitable mechanical properties, wherein the stem cells would be capable of contributing to tissue regeneration by proliferation and differentiation into myofibroblasts with proper formation of connective tissue.

Keywords: stress urinary incontinence; genetics; extracellular matrix; collagen; elastin.

INTRODUÇÃO

A incontinência urinária de esforço (IUE) é definida pela International Continence Society (ICS) e pela International Urogynaecology Association (IUGA) como a queixa de perda involuntária de urina durante um esforço, como a tosse, espirro ou uma atividade física (1). Entre os vários tipos de incontinência urinária (IU) feminina (de esforço, urgência e mista), a IUE é a mais frequente, com uma prevalência de aproximadamente 50% (2-4), afetando todas as idades, com um pico de 8-70% em mulheres entre os 40 e 60 anos (5). A IUE acarreta um enorme encargo económico sobre os sistemas de saúde, estimado em 19,5\$ bilhões por ano nos Estados Unidos (6) e 740 £ milhões no Reino Unido (7). Além dos elevados custos económicos, a IUE afeta globalmente a qualidade de vida das mulheres com graves implicações nas relações sociais, profissionais e familiares (8). Apesar disso, a maioria das mulheres com IU não procura ajuda médica (3).

A perda de urina na IUE ocorre quando a pressão intra-vesical excede a pressão máxima de encerramento da uretra, no seguimento de um aumento súbito da pressão abdominal (9). Ocorre uma falha no mecanismo de continência, devido a uma mudança anatómica (tipicamente uma perda do suporte do colo da bexiga, secundária a um enfraquecimento dos músculos do pavimento pélvico), e ou ao comprometimento neuromuscular do esfíncter em si (9,10).

Apesar da fisiopatologia da IUE não estar completamente esclarecida, há vários fatores de risco reconhecidos, incluindo a idade (2,11,12), a gravidez (11-14), o parto vaginal (11,12,15,16), a terapia de reposição hormonal (17-19), a obesidade (11,20) e a cirurgia pélvica, em particular a histerectomia (11,12,21).

No entanto, o facto de mulheres nulíparas, sem qualquer trauma pélvico também desenvolverem IUE, enquanto outras, com múltiplos partos vaginais não apresentarem sintomas, suscita alguma curiosidade (22). Estas observações, em conjunto com dados epidemiológicos (5,12,23,24) sugerem que pode haver fatores genéticos que predispõem algumas mulheres a desenvolverem IUE e outra disfunção do pavimento pélvico. A

investigação e identificação de alterações genéticas que possam ser fatores de risco para o desenvolvimento da IUE podem levar a novas opções terapêuticas para a IU (11).

Atualmente o tratamento da IUE é fundamentalmente cirúrgico, estando direcionado para restabelecer o suporte do colo da bexiga e da uretra proximal ou para criar coaptação e/ou compressão de modo a aumentar a resistência do esfíncter uretral (25). A colocação de fitas sintéticas ou slings pubo-vaginais (por exemplo, TVT, TVT-O, TVT-S), em posição retropúbica ou transobturadora, é atualmente a técnica cirúrgica mais utilizada (26).

Apesar dos progressos que foram feitos no tratamento da IUE (27), a compreensão dos seus mecanismos moleculares subjacentes ainda é limitada (28). Para algumas pacientes, o enfraquecimento do tecido conjuntivo pélvico de suporte pode estar relacionado com um metabolismo alterado da matriz extracelular (MEC), contribuindo para a progressão da doença e para um eventual fracasso da correção cirúrgica (29).

O objetivo da presente monografia é realizar, através de uma pesquisa bibliográfica, uma revisão na literatura científica sobre o papel dos fatores genéticos no desenvolvimento da IUE.

Procedeu-se a uma pesquisa bibliográfica com as seguintes palavras: “stress urinary incontinence genetic” na *PubMed* e a uma revisão da lista de referências dos artigos obtidos na pesquisa inicial. Os critérios de inclusão selecionados foram: artigos escritos em língua inglesa ou portuguesa.

1. TENDÊNCIA FAMILIAR

A contribuição genética nos distúrbios do pavimento pélvico é apoiada principalmente por relatos de agregados familiares com a doença (30-35) e por estudos transversais que referem variações na ocorrência da doença em diversos grupos étnicos com uma exposição ambiental semelhante (5,23,24).

Assim, Wennberg et al. (30) usaram um grupo de gémeos suecos entre os 20 e os 46 anos, para estimar a prevalência e a hereditariedade de sintomas do trato urinário inferior. Nesse grupo a influência genética foi mais forte para a incontinência. Este estudo também mostrou que os efeitos ambientais partilhados contribuem para o desenvolvimento IUE, mas de uma forma menos pronunciada. Os dados deste estudo sugerem uma influência genética na suscetibilidade para qualquer tipo de IU. Já num estudo realizado em gémeos dinamarqueses de meia-idade e mais velhos, os fatores genéticos apenas têm papel determinante no desenvolvimento de IU de urgência (36).

Um erro comum é considerar que a agregação familiar é, invariavelmente, resultado de fatores genéticos. A estimativa do risco de desenvolver IUE, em membros de uma família, na maioria dos casos não pode distinguir entre a hereditariedade e a não-hereditariedade (fatores ambientais) no ambiente familiar. As influências familiares podem ter um efeito direto na transmissão do risco de IU (incluindo o tabagismo, as atitudes, o exercício físico, os hábitos alimentares). Contudo, comparando gémeos monozigóticos com gémeos dizigóticos, é possível estimar a proporção relativa da variação fenotípica resultante de fatores ambientais e de fatores genéticos. Se os gémeos monozigóticos forem mais concordantes para a condição do que os gémeos dizigóticos, é provável que haja uma influência genética. Se os gémeos monozigóticos forem discordantes para uma determinada condição, quando comparados com gémeos dizigóticos, indicam a influência de fatores ambientais (37).

Altman et al. estudaram os registos de gémeos suecos para determinar a contribuição dos fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento da IUE e de prolapso dos órgãos pélvicos (POP). Comparando 3376 pares de mulheres monozigóticas e 5076

pares de mulheres dizigóticas, verificou-se uma maior semelhança entre os gêmeos monozigóticos, indicando a influência de um componente genético para a etiologia de ambas as doenças (34). Os efeitos genéticos contribuíram para 41% da variação da suscetibilidade para IUE. Os fatores ambientais contribuíram na mesma medida que a hereditariedade genética para desenvolvimento da IUE.

Mushkat et al. (31) investigaram mães e irmãs de mulheres com IUE. Em parentes de primeiro grau de mulheres com IUE, a prevalência de incontinência foi de 20,3%, três vezes superior à de parentes de mulheres continentas. Esta prevalência foi confirmada por dois outros estudos familiares (32,33).

Buchsbaum et al. (35) estudaram o papel do parto vaginal e dos fatores familiares no desenvolvimento de IU, comparando a prevalência desta condição em mulheres nulíparas e nas suas irmãs múltiparas, ambos os grupos na pós-menopausa. O parto vaginal parece não estar associado com o desenvolvimento de IU depois da menopausa. Foi encontrada IU em 47,6% das mulheres nulíparas e em 49,7% das múltiparas. Não foram encontradas diferenças na severidade ou no tipo de IU entre estes dois grupos. Houve uma elevada concordância no estado de continência entre as irmãs, sugerindo uma predisposição familiar subjacente em relação ao desenvolvimento de IU.

2. PREVALENCIA ENTRE GRUPOS ÉTNICOS

A prevalência da IUE também varia entre mulheres de diferentes raças e etnias, mesmo quando expostas a fatores ambientais semelhantes (5,23,24). As mulheres brancas apresentam uma prevalência de IUE superior às mulheres negras (39,2% e 25%, respectivamente) (24). De acordo com os dados da NHANES, a prevalência de IUE nas mulheres negras foi de 12,3%, em comparação com 26,5% nas mulheres brancas e de 25,8% nas mulheres mexicano-americanas (23). O risco de IUE permanece bastante baixo em mulheres negras e asio-americanas, comparando com mulheres brancas (5).

3. A MATRIZ EXTRACELULAR NOS DISTÚRBIOS DO PAVIMENTO PÉLVICO

A parede vaginal é constituída por 4 camadas: uma camada superficial de epitélio pavimentoso estratificado não-queratinizado; a camada mucosa, formada por tecido conjuntivo, que é constituído principalmente por colagénio e elastina; a camada muscular, constituída por músculo liso; e a camada adventícia, também composta por tecido conjuntivo. A mucosa e muscular vaginais formam em conjunto uma camada fibromuscular sob o epitélio vaginal, fornecendo um suporte longitudinal e central (38).

O tecido conjuntivo da vagina é constituído por adipócitos, mastócitos e principalmente fibroblastos, que produzem os componentes da MEC. A MEC é constituída por um componente estrutural (fibras de colagénio e de elastina) e por um componente não-fibrilar, sem grande estruturação (glicoproteínas estruturais, proteoglicanos e ácido hialurónico). O componente estrutural contribui para o comportamento biomecânico dos tecidos. A quantidade e a qualidade do colagénio e da elastina são mantidas através do equilíbrio entre a sua síntese, maturação e degradação. Este equilíbrio resulta de um processo dinâmico de remodelação constante (38,39).

As mulheres que sofrem de doenças hereditárias graves do tecido conjuntivo, como síndrome de Ehlers-Danlos, com mutação nos genes da elastina e fibulina-5, e síndrome de Marfan com mutações no gene da fibrilina-1, têm um risco aumentado de desenvolver IUE e POP, sugerindo que a doença do tecido conjuntivo é um fator etiológico (40).

O POP e a IUE ocorrem frequentemente em conjunto, ou em diferentes momentos na mesma paciente. Embora numa paciente com POP a IU possa ser mascarada pela obstrução da uretra induzida pelo prolapso (41), o POP tem prevalência e fatores de risco associados semelhantes aos da IU (42).

A predisposição familiar da IUE pode estar relacionada com mutações genéticas ou com polimorfismos. Estas variações estão presentes em todo o genoma e afetam a transcrição do mRNA que codifica uma grande variedade de proteínas responsáveis pelo metabolismo da MEC. Foram identificados polimorfismos em genes de componentes

proteicos da MEC, enzimas proteolíticas, proteínas reguladoras e recetores. Estas mutações podem ou inibir a síntese de colagénio e elastina, ou aumentar a sua degradação (43).

3.1. COLAGÉNIO

A estabilidade mecânica do trato genitourinário depende da integridade e da funcionalidade das fibras de colagénio (44).

O colagénio é sintetizado principalmente por fibroblastos e outras células do tecido conjuntivo. Inicialmente formam-se cadeias peptídicas α no retículo endoplasmático rugoso (RER) dos fibroblastos. Estas cadeias peptídicas, conhecidas como pré-procolagénio, possuem peptídeos nas extremidades (peptídeos de registo). O pré-procolagénio é libertado para o citoplasma, onde ocorre a hidroxilação dos aminoácidos lisina e prolina (depende da vitamina C), e a glicosilação de resíduos da hidroxilisina. Forma-se uma estrutura helicoidal tripla composta por 3 cadeias α , o procolagénio. Esta molécula vai ser transportada para o complexo de Golgi, onde será incluída nas vesículas e libertada no espaço extracelular. Aí ocorre a clivagem dos peptídeos de registo presentes nas extremidades, devido à ação de peptidases do colagénio, formando-se o tropocolagénio. As moléculas de tropocolagénio associam-se a outras moléculas de tropocolagénio através de ligações covalentes, constituindo as fibrilas, que, por sua vez, se associam, originando as fibras de colagénio (38,39).

O colagénio é uma molécula em tripla hélice, formada por 3 cadeias polipeptídicas α , estabilizadas por pontes de hidrogénio. Há 28 tipos de colagénio descritos (43). Os tipos I, III e V foram descritos na vagina e nos tecidos de suporte do pavimento pélvico, e pensa-se que possam ser os principais determinantes da respetiva força. O tipo I forma fibras de alta resistência e confere força, predominando em tecidos de elevada resistência - ligamentos, fáscias, tendões, osso e pele. O tipo III forma fibras menores e de menor resistência. Contribuem para a elasticidade dos tecidos, predominando naqueles que necessitam de uma maior flexibilidade e distensibilidade. O tipo III é o principal subtipo de colagénio nos

tecidos de suporte do pavimento pélvico e na vagina. O tipo V é encontrado em pequenas quantidades na vagina e tecidos de suporte com papel ainda desconhecido (39).

A proporção entre os tipos de colagénio integrantes de um tecido é determinante para a respetiva força e distensibilidade (43). Uma maior contribuição de colagénio III e V numa fibrila, diminuindo o tamanho da fibra, irá diminuir a força do tecido conjuntivo e levar a maior lassidão (45,46).

Vários estudos indicam um metabolismo anormal do colagénio nos tecidos pélvicos das mulheres com IUE. A diminuição dos seus níveis foi demonstrada na fáscia endopélvica (47,48), na parede vaginal anterior (44), nos ligamentos redondos (49) e no tecido vaginal periuretral (50). Estes e outros estudos (47,49,51) mostraram uma diminuição de colagénio na pele, sugerindo um processo sistémico.

Keane et al. (50) demonstraram que as mulheres nulíparas com IUE tinham uma diminuição de 25% nos níveis de colagénio nos seus tecidos periuretrais, em relação aos controlos. Relataram ainda uma diminuição na proporção colagénio tipo I/ tipo III, o que sugere um menor suporte do colagénio à volta da uretra.

Vários estudos demonstraram uma diminuição do colagénio tipo III na fáscia paravaginal, ligamento útero-sagrado, ligamento redondo, tecido vaginal periuretral e tecido perineal, em relação às mulheres continentais (50,52-54). E outros mostraram uma diminuição no colagénio tipo I em mulheres com IUE (55,56). As diferenças na proporção do colagénio tipo I e tipo III podem ser devidas à degradação preferencial de um tipo de colagénio, ou a maior incorporação de um tipo em relação a outro, para a formação de fibrilas de colagénio (47).

Colagénio e proteoglicanos

Alterações no conteúdo dos proteoglicanos podem afetar a formação de fibras de colagénio e causar uma desorganização na sua distribuição. Os proteoglicanos de baixo peso molecular ricos em leucina (SLRPs) secretados na MEC, interagem com o colagénio, regulando a formação das suas fibras e a própria função celular do tecido conjuntivo (55).

Entre estes, a decorina e a fibromodulina estavam aumentados nos tecidos periuretrais de mulheres com IUE (54,55). O seu aumento pode interferir na formação, manutenção e até destruição da MEC (55). Trabucco et al. (55) observaram uma distribuição desorganizada das fibras de colagénio, e uma expressão aumentada de fibromodulina, no tecido periuretral de mulheres com IUE em pré menopausa. Eles sugeriram que a ligação da fibromodulina ao colagénio tipo I pode contribuir para retardar a formação de fibras de colagénio, levando a sua diminuição e desorganização naquelas doentes.

Colagénio e produtos finais de glicação avançada (AGES)

A maturidade dos tecidos pode ser avaliada através da proporção relativa das ligações cruzadas bivalentes em relação às ligações cruzadas trivalentes (maduras). O colagénio maduro que metaboliza lentamente é suscetível a ligações cruzadas não-enzimáticas, também conhecidas como glicação ou reação de Maillard. Consiste na adição de glicose ao colagénio, resultando em produtos finais de glicação avançada (AGEs). Estes produtos vão-se acumulando com a idade, sendo este mecanismo a principal causa de disfunção dos tecidos conjuntivos, observado em idades avançadas. A acumulação dos AGEs leva a uma perda de elasticidade dos tecidos, em comparação com aqueles em que o colagénio apenas exhibe ligações cruzadas enzimáticas (57).

Colagénio e transcrição genética

Vários estudos têm investigado os polimorfismos genéticos que codificam as cadeias $\alpha 1$ e $\alpha 2$ do colagénio tipo I, e a sua influência em várias patologias (58,59). O colagénio tipo I é uma proteína que consiste em duas cadeias $\alpha 1$ e uma cadeia $\alpha 2$ (60). A expressão dos genes que codificam a cadeia $\alpha 1$ do colagénio (COL1A1) e a cadeia $\alpha 2$ (COL1A2) tem de ser coordenada e estritamente regulada. Os polimorfismos do gene COL1A1 podem afetar a sua taxa de expressão (59). COL1A1 Sp1 é um polimorfismo de um único nucleotídeo na região da regulação do COL1A1, onde a guanina (G) é substituída por timina (T) no primeiro intrão do gene. Este polimorfismo resulta em 3 diferentes genótipos (homozigotos G/G,

heterozigotos G/T e homozigotos T/T). Estas variações podem alterar o local de reconhecimento para o fator de transcrição Sp1, alterando assim a afinidade da ligação entre o Sp1 e a cadeia de DNA. O polimorfismo G-T no local de ligação do fator de transcrição Sp1 no primeiro intrão do gene COL1A1, aumenta a afinidade da proteína Sp1 para a cadeia de DNA. Isto conduz a um aumento da produção de COL1A1 em relação à proteína COL1A2, o que pode facilitar a formação de homotrímeros ($[\alpha 1(I)_3]$) em vez dos normais heterotrímeros ($[\alpha 1(I)_2 \alpha 2(I)]$) (61).

Sioutis et al. (58) e Skorupski et al. (62) demonstraram que a substituição da guanina pela timina no local de ligação do fator de transcrição Sp1 estava associada ao desenvolvimento de IUE, e que a prevalência do alelo T era significativamente maior nas mulheres com IUE, em relação aos controlos. Estes dois estudos (58,62) sugerem que o polimorfismo de COL1A1 Sp1 está associado com o aumento da prevalência da IUE nas mulheres.

Colagénio e tradução proteica

Chen et al. (47) sugeriram que a diminuição do conteúdo de colagénio na fáscia endopélvica e na pele de mulheres com IUE, não estava relacionada com a redução da síntese de colagénio, nem com uma redução seletiva na síntese dos tipos I ou III.

Bakas et al. (63) encontraram uma diminuição do colagénio tipo I e tipo III em mulheres com IUE. No entanto, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de mRNA de procólagenio I e III. Eles sugeriram que esta redução na quantidade de colagénio sem uma redução concomitante nos níveis de mRNA de procólagenio I e III poderia ser atribuída a um distúrbio na tradução do mRNA para a proteína, ou a um aumento da degradação do colagénio.

A degradação do colagénio

O equilíbrio entre a síntese e a degradação de colagénio é importante para a manutenção da integridade e da resistência dos tecidos durante a sua remodelação

continua (38). O turnover do tecido conjuntivo é mantido por uma família de endopeptidases, metaloproteinases da matriz (MMPs), que degradam o colagénio (64). Existem 23 tipos diferentes, envolvidas em diferentes tipos de tecidos (43). Todas elas podem degradar um ou mais componentes da MEC, com diferentes especificidades (38). Os colagénios intersticiais (tipo I, II e III) são clivados pelas collagenases intersticiais (MMP-1, MMP-8 e MMP-13). Os fragmentos do colagénio resultantes desta clivagem são rapidamente degradados pelas gelatinases (MMP-2 e MMP-9). Estas gelatinases também são capazes de degradar a elastina (64).

A atividade das MMPs é controlada por: 4 inibidores das metaloproteinases derivados dos tecidos (TIMPs) TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 e TIMP-4. O TIMP-1 bem como o TIMP-3 ligam-se ao MMP-1 e MMP-9; o TIMP-2 liga-se ao MMP-2 (65); por proteínas do soro, como a α 2-macroglobulina (64).

Os relatos de diminuição de colagénio total no tecido pélvico de mulheres com IUE sugerem que a degradação de colagénio possa contribuir para o desenvolvimento desta doença (66). Desde que Jackson et al. (67) descreveram um aumento da atividade das MMPs nas mulheres com POP, começou a existir um interesse crescente em analisar a relação entre a degradação do colagénio e as doenças do pavimento pélvico (43).

Chen et al. (44) estudaram biópsias da parede vaginal de mulheres com IUE e POP na pré-menopausa e na menopausa, em relação a controlos. Relataram um aumento na expressão da MMP-1 nas mulheres com IUE e POP, assim como também observaram uma diminuição da expressão do TIMP-1, no mesmo grupo. Para confirmar que a degradação do colagénio estava aumentada, mediram o conteúdo total de colagénio, que foi significativamente menor entre as mulheres com IUE. Eles sugeriram que, neste grupo de mulheres, a atividade da MMP-1 está facilitada, uma vez que esta sofre uma menor inibição devido aos níveis mais baixos de TIMP-1 (44).

Num outro estudo, Chen et al. (68) confirmaram a diminuição da expressão de TIMP-1, mas não encontraram alterações da MMP-1 ativa, no tecido periuretral de mulheres com IUE.

Wen et al. (69) relataram que os níveis de $\alpha 2$ -macroglobulina, um inibidor das proteases, estavam significativamente diminuídos na parede vaginal de mulheres em pré-menopausa com IUE, em relação aos controlos. Esta diminuição da expressão da $\alpha 2$ -macroglobulina e da sua atividade inibitória nos tecidos pode resultar num aumento da atividade proteolítica na MEC, contribuindo para o desenvolvimento de IUE. Estes dados (69) combinados com outros estudos em que foi observada uma menor expressão do TIMP-1 (44,68), sugerem que a diminuição da expressão de inibidores de proteases na MEC pode contribuir para o desenvolvimento da IUE.

Após a clivagem mediada pela MMP, os fragmentos de colagénio são excretados na urina. Destes, o peptídeo helicoidal $\alpha 1$ é excretado em maiores quantidades na urina de mulheres com IUE (29), sugerindo a existência de um aumento do mecanismo de degradação do colagénio.

3.2. ELASTINA

O elastina é outro componente da MEC e é responsável pela elasticidade dos tecidos, permitindo que estes aumentem o seu comprimento quando sujeitos a forças de tração, voltando à sua forma original quando essas forças cessam, sem gasto de energia. Esta propriedade é muito importante para os tecidos reprodutivos, uma vez que eles acomodam uma enorme expansão durante a gravidez e uma involução após o parto (70,71).

A elastina é uma proteína hidrofóbica, rica em glicina e prolina. Os fibroblastos segregam a tropoelastina, forma solúvel e imatura da elastina, ocorrendo a formação de ligações cruzadas entre monómeros de tropoelastina, após uma reação enzimática catalisada pela lisiloxidase (LOX). A desmosina e a isodesmosina são as moléculas responsáveis por estabelecer essas ligações cruzadas, formando-se uma matriz reticulada de longa duração e insolúvel. A elastogénese consiste na síntese de fibras elásticas. Inicialmente há um citoesqueleto de fibras de fibrilina 1 e 2, glicoproteínas e de outras proteínas, entre elas a fibulina-5, que vão servir de molde para a elastina se depositar (70).

A resistência dos tecidos depende das ligações cruzadas entre as fibras de elastina e de colagénio, formadas pela enzima LOX (43). O colagénio e as fibras elásticas são então unidos por ligações cruzadas, e os proteoglicanos de baixo peso molecular ricos em leucina (SLRPs) parecem estar envolvidos neste processo. Os SLRPs cobrem a superfície do colagénio, onde contribuem para a formação das fibrilas. Entre estes, a decorina, a fibromudolina e a lumican foram destacadas por influenciarem a formação da fibra de colagénio (72-74). Além disso, as interações entre a fibrilina-1 e a decorina fazem parte da formação das fibras elásticas (75).

As enzimas proteolíticas capazes de degradar a elastina incluem as proteases de serina (a elastase de neutrófilos é das enzimas mais conhecidas, e é neutralizada pela α 1-antitripsina), as proteases de cisteína (catepsinas L, S e K) e as MMPs (MMP-2, MMP-9 e a MMP-12) (66).

Na maioria dos órgãos, a síntese de elastina é limitada a um breve período do desenvolvimento, sendo principalmente estabelecida durante o desenvolvimento fetal, e raramente sintetizada nos tecidos adultos. Se a elastina for danificada ou destruída, a sua reparação metabólica resulta frequentemente em produtos malformados e disfuncionais (66). No entanto, no trato reprodutivo há uma remodelação cíclica e contínua das fibras de elastina. O excesso de degradação de elastina ocorre no momento do parto, seguido por uma nova síntese de recuperação no pós-parto, o que permite a recuperação dos tecidos reprodutivos para o seu estado pré-gestacional (71).

Os dados sugerem que a correta degradação, síntese e regeneração das fibras elásticas são essenciais para manter o suporte dos órgãos pélvicos (39). Yamamoto et al. (76) documentaram reduções acentuadas na transcrição do gene da elastina e na sua produção nos fibroblastos pélvicos de mulheres com POP, e colocaram a hipótese de que este facto poderia levar à diminuição da quantidade de fibras elásticas, contribuindo assim para a perda de suporte dos tecidos pélvicos nas mulheres com prolapso. Uma vez que a elastina modula as características mecânicas dos tecidos de suporte, e foi documentada uma diminuição na produção de elastina nos fibroblastos de mulheres com POP, é possível

que o metabolismo anormal da elastina contribua para a alteração do tecido conjuntivo em mulheres com disfunção do pavimento pélvico em geral. Goepel et al. (77) estudaram as fibras elásticas do tecido conjuntivo periuretral de mulheres na pós-menopausa com IUE. Observaram complexos de elastina diminuídos e mais degradados neste grupo de mulheres.

Chen et al. (78) demonstraram que a atividade total das elastases e a expressão da elastase de neutrófilos era semelhante entre as mulheres com IUE e os controlos. No entanto, a atividade da elastase de neutrófilos foi significativamente afetada pelo ciclo menstrual, sendo mais elevada nos tecidos periuretrais de mulheres com IUE na fase secretora. Eles também observaram uma diminuição no nível de α 1-antitripsina dos tecidos com IUE. Este desequilíbrio entre a atividade proteolítica da elastase e do seu inibidor, remete para a atividade da MMP-1 e da TIMP-1 no metabolismo do colagénio, podendo as mulheres incontinentes ter uma degradação de elastina aumentada atribuível à menor inibição da elastase (78).

Chen et al. (79) examinaram a atividade das elastases no tecido vaginal de mulheres na pré-menopausa com disfunção no pavimento pélvico, em comparação com controlos assintomáticos. Não foram encontradas diferenças nos níveis de elastase de neutrófilos nem de catepsina K entre os dois grupos. No entanto, demonstraram uma significativa diminuição nos níveis α 1-antitripsina (inibidor endógeno da elastase) no grupo de mulheres com IUE e POP, em relação aos controlos.

Wen et al. (69) relataram uma diminuição da expressão de α 2-macroglobulina na parede vaginal nas mulheres com IUE. Mais uma vez, estes dados combinados com os relatos de diminuição da expressão de TIMP-1 (44,68) e de α 1-antitripsina (78,79) nos tecidos pélvicos de mulheres com IUE, sugerem que a diminuição da expressão de inibidores de proteases na MEC pode contribuir para o desenvolvimento de IUE.

Soderberg et al. (80) descobriram níveis mais baixos de fibrilina-1, uma glicoproteína essencial para a formação de fibras elásticas no tecido conjuntivo, periuretral de mulheres na pré- e pós-menopausa com IUE, o que pode levar a uma deposição deficiente da elastina. Este estudo não revelou nenhuma alteração significativa na expressão dos genes

dos SLRPs em mulheres com IUE, ao contrário de um estudo recente realizado pelos mesmos autores, em que foi estudada a MEC em mulheres com POP, e mostrou uma diminuição na expressão dos SLRPs, principalmente da decorina (81).

O genoma dos mamíferos tem 5 genes relacionados que codificam a LOX e 4 proteínas semelhantes à LOX (LOXL1, LOXL2, LOXL3 e LOXL4) (82). Recentemente foi demonstrado que a LOXL1 é essencial para a homeostasia das fibras elásticas em vários tecidos, incluindo o pavimento pélvico (83). A LOXL1 é uma proteína essencial para a deposição das fibras elásticas no período pós-parto. Liu et al. (71) mostraram que ratinhos fêmea sem a proteína LOXL1 desenvolveram POP logo após o parto. Revelaram também que a expressão de LOXL1 no trato reprodutivo dos ratinhos está diminuída com o aumento da idade, e é acompanhada por uma diminuição e pela fragmentação das fibras elásticas. Ratinhos que não têm a LOXL1 são incapazes de sintetizar polímeros de elastina em tecidos adultos, enquanto a síntese de colagénio parece prosseguir normalmente. De forma semelhante, estudos em humanos mostraram uma diminuição significativa nos níveis de LOX ou de LOXL1 em pacientes com POP, em relação aos controlos (84-86).

Ozbek et al. (87) investigaram os polimorfismos no gene LOXL1 em mulheres com IUE submetidas a parto vaginal. Relataram que neste grupo, nas regiões rs2165241 e rs1048661 do gene LOXL1, o polimorfismo homozigoto TT estava significativamente aumentado, em relação aos controlos. Sugeriram que o polimorfismo homozigoto TT nas regiões rs2165241 e rs1048661 do gene LOXL1 pode ser responsável pelo desenvolvimento da IUE, uma vez que causa um defeito funcional no gene LOXL1, e que este defeito leva a uma síntese e remodelação anormal de elastina nas estruturas pélvicas da mulher.

A fibulina-5 é uma proteína de ligação essencial para a formação das fibras elásticas. O aumento da sua síntese e de tropoelastina e de fibulina-5 neutraliza a rutura das fibras elásticas, regenerando assim a parede vaginal (88). Drewes et al. (88) mostraram que ratinhos sem a fibulina-5 desenvolveram POP antes da gravidez, com aumento da gravidade após o parto vaginal.

4. ESTUDOS GENÓMICOS DA IUE

Os estudos de análise de ligação do genoma fornecem um elevado nível de evidência da contribuição genética através da localização específica de genes candidatos associados a doenças do pavimento pélvico (43). Allen-Brady et al. (89) estudaram famílias em que duas ou mais mulheres foram submetidas a cirurgia para reparação de POP, entre as quais 2/3 também tinham sido submetidas a cirurgia para reparação de IUE.

Demonstraram que em metade destas famílias o cromossoma 9q21 contém um gene que predispõe para a doença do pavimento pélvico. O mapeamento fidedigno do gene e uma eventual sequenciação podem levar à identificação do verdadeiro erro genético.

Bukovsky et al. (90) observaram diferenças nos níveis de expressão da proteína p27/kip (cromossoma 14q), um inibidor da cinase dependente da ciclina, no músculo elevador do ânus de 22 mulheres sintomáticas com IUE e/ou POP, em relação a 9 mulheres assintomáticas. Demonstraram que os distúrbios do pavimento pélvico em mulheres na pré-menopausa estão associados a hipertrofia das células musculares e a uma expressão moderada da p27 citoplasmática, enquanto nas mulheres na pós-menopausa estão associados a uma retração e fragmentação das células musculares e a uma expressão aumentada da p27 citoplasmática.

Lin et al.(28) estudaram as alterações genéticas e moleculares no tecido uretral de ratinhos Sprague-Dawley com IUE induzida experimentalmente. A expressão dos genes envolvidos na via de sinalização celular do TGF (Smad2), na degradação do colagénio (MMP13) e na inibição do músculo liso (Rgs2) estava significativamente aumentada no grupo incontinente. Eles sugeriram que os genes envolvidos no processo inflamação, na degradação do colagénio e na regulação do músculo liso têm um grande componente no desenvolvimento da IUE em ratinhos.

DISCUSSÃO

Os dados atuais sugerem a existência de um componente familiar no desenvolvimento da IUE (31-35). Foi relatado que os efeitos genéticos contribuíram para 41% da variação da suscetibilidade da IUE (34), assim como outros estudos familiares relataram uma prevalência de IUE duas a três vezes mais elevada entre parentes de primeiro grau de mulheres com IUE (31-33).

Os tecidos conjuntivos da vagina e os tecidos de suporte estão em constante remodelação. As pesquisas existentes suportam a hipótese de que a remodelação das proteínas da MEC desempenha um papel na fisiopatologia da IU (43,66). Foi sugerido que as mulheres com predisposição genética para a IUE, apresentam alterações intrínsecas no metabolismo da MEC, levando à destruição da arquitetura normal dos tecidos e às suas propriedades mecânicas, tornando os tecidos pélvicos mais propensos à rutura durante a lesão, e mais suscetíveis a sofrerem processos degenerativos crônicos (79). De facto, vários estudos demonstraram uma diminuição dos níveis de colagénio, no tecido pélvico de mulheres com IUE (44,47-50). O aumento da expressão de MMP-1 (44), assim como a diminuição da expressão de TIMP-1 (44,68) e da $\alpha 2$ -macroglobulina (69) nas mulheres com IUE sugere que um aumento no mecanismo de degradação do colagénio pode contribuir para o desenvolvimento da IUE. O conteúdo de elastina também foi encontrado diminuído no pavimento pélvico das mulheres com IUE (77). A atividade da elastase de neutrófilos foi relatada como aumentada (78), enquanto a expressão de $\alpha 1$ -antitripsina (78,79) e de $\alpha 2$ -macroglobulina (69) estava diminuída. Os dados referentes à diminuição da expressão da TIMP-1 (44,68), combinados com a diminuição da $\alpha 1$ -antitripsina (78,79) e da $\alpha 2$ -macroglobulina (69) sugerem que a diminuição da expressão de inibidores de proteases na MEC pode contribuir para o desenvolvimento de IUE.

É cada vez mais evidente que as variações genéticas afetam a predisposição das mulheres para desenvolverem IUE. Vários genes candidatos e polimorfismos envolvidos na expressão de proteínas da MEC têm sido descritos como contribuintes para a patogénese desta doença (43). As análises da ligação do genoma também forneceram um elevado nível

de evidência da contribuição genética, através da localização específica de genes candidatos (cromossoma 9q21) associados a doenças do pavimento pélvico (89). Outros estudos limitaram a sua pesquisa a genes específicos, relacionando a presença de polimorfismo de um único nucleotídeo em mulheres com IUE, que estão presentes em genes que codificam o colagénio tipo I (58,62).

Uma compreensão mais clara da fisiopatologia responsável pela IUE é clinicamente relevante a vários níveis. Primeiro, a identificação da população de pacientes em risco através da triagem de polimorfismos conhecidos, pode levar a estratégias preventivas, evitando a contribuição de fatores de risco. Em segundo lugar, pode permitir o desenvolvimento de terapias de intervenção onde pode ser possível modificar localmente a maturação e a remodelação da MEC em pacientes que sofram desta patologia (43).

Atualmente o tratamento da IUE é fundamentalmente cirúrgico, estando direcionado para um dos dois seguintes objetivos: reposicionar a uretra e/ou criar um suporte de modo a estabilizar a uretra e a bexiga numa posição retropúbica, de forma a estar recetiva a alterações na pressão intra-abdominal; ou criar coaptação e/ou compressão de modo a aumentar a resistência do esfíncter uretral com ou sem influência no suporte do colo da bexiga e da uretra (por exemplo com slings ou com agentes injetáveis, respetivamente) (25). Os procedimentos cirúrgicos convencionais para o tratamento da IU produzem uma taxa média de cura de até 80% (25,26). A administração de um agente injetável (por exemplo o colagénio) no tecido periuretral comprime a uretra, e constitui uma das técnicas convencionais para o tratamento da IU. É um método menos invasivo, no entanto nenhum dos agentes injetáveis parece cumprir simultaneamente os critérios de sucesso de eficácia ao longo do tempo e ter efeitos adversos limitados (91). A implantação ou a injeção de material estranho no trato urinário inferior pode causar efeitos adversos graves. A colocação de slings sintéticos, ocasionalmente pode causar inflamação crónica, abscessos periuretrais, erosões, imperiosidade de novo, oclusão passiva da uretra, obstrução do trato urinário inferior, retenção urinária e esvaziamento incompleto da bexiga (92).

Atualmente, a pesquisa mais promissora em relação ao tratamento da IU está focada na reparação regenerativa do esfíncter uretral, através da terapia com células estaminais (93). Enquanto os biomateriais fornecem um apoio estrutural/mecânico ao colo da bexiga, a injeção de células estaminais autólogas na região do esfíncter uretral tem como objetivo restaurar a contractilidade do esfíncter (94). A terapia com células autólogas para a IUE, envolvendo células-tronco derivadas de músculos, células-tronco derivadas de tecido adiposo, mioblastos e fibroblastos, é uma nova área de pesquisa que pode levar a uma melhoria das taxas de cura e a uma diminuição dos riscos cirúrgicos (93). Os mioblastos e os fibroblastos autólogos parecem ser efetivos na reconstrução do trato urinário inferior de animais, e a aplicação transuretral destas células tem mostrado restaurar a normal morfologia e função do esfíncter e da submucosa uretral em animais (95,96).

Idealmente seria possível desenvolver um esqueleto biocompatível e reabsorvível com propriedades mecânicas adequadas, em que as células estaminais seriam capazes de contribuir para a regeneração dos tecidos através da proliferação e diferenciação em miofibroblastos com formação de tecido conjuntivo apropriado. No entanto, se os fibroblastos autólogos de pacientes com distúrbios do pavimento pélvico forem incapazes de produzir a MEC, devido à sua constituição genética, a utilização de células estaminais alogénicas pode ser considerada (38).

A IUE pode desenvolver-se por mecanismos ainda não explorados. As pesquisas futuras devem concentrar-se na compreensão dos processos de controlo da remodelação da MEC (43). São necessários mais conhecimentos sobre o papel dos diferentes tipos de colagénio, sobre a sua remodelação e degradação, assim como a interação entre a manutenção do colagénio, o metabolismo da elastina, e os componentes genéticos envolvidos na fisiopatologia dos distúrbios do pavimento pélvico (38).

REFERÊNCIAS

1. Haylen BT, de Ridder D, Freeman RM, Swift SE, Berghmans B, Lee J, et al. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for female pelvic floor dysfunction. *Neurourology and urodynamics*. 2010;29(1):4-20.
2. Hannestad YS, Rortveit G, Sandvik H, Hunskaar S. A community-based epidemiological survey of female urinary incontinence: the Norwegian EPINCONT study. *Epidemiology of Incontinence in the County of Nord-Trondelag. Journal of clinical epidemiology*. 2000 Nov;53(11):1150-7.
3. Minassian VA, Drutz HP, Al-Badr A. Urinary incontinence as a worldwide problem. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 2003 Sep;82(3):327-38.
4. Correia S, Dinis P, Rolo F, Lunet N. Prevalence, treatment and known risk factors of urinary incontinence and overactive bladder in the non-institutionalized Portuguese population. *International urogynecology journal and pelvic floor dysfunction*. 2009 Dec;20(12):1481-9.
5. Buckley BS, Lapitan MC. Prevalence of urinary incontinence in men, women, and children--current evidence: findings of the Fourth International Consultation on Incontinence. *Urology*. 2010 Aug;76(2):265-70.
6. Hu TW, Wagner TH, Bentkover JD, Leblanc K, Zhou SZ, Hunt T. Costs of urinary incontinence and overactive bladder in the United States: a comparative study. *Urology*. 2004 Mar;63(3):461-5.
7. Turner DA, Shaw C, McGrother CW, Dallosso HM, Cooper NJ. The cost of clinically significant urinary storage symptoms for community dwelling adults in the UK. *BJU international*. 2004 Jun;93(9):1246-52.
8. Gasquet I, Tcherny-Lessenot S, Gaudebout P, Bosio Le Goux B, Klein P, Haab F. Influence of the severity of stress urinary incontinence on quality of life, health care seeking, and treatment: A national cross-sectional survey. *European urology*. 2006 Oct;50(4):818-25.
9. Norton P, Brubaker L. Urinary incontinence in women. *Lancet*. 2006 Jan 7;367(9504):57-67.
10. Chapple CR, Milsom I. Urinary Incontinence and Pelvic Prolapse: Epidemiology and Pathophysiology. In: Campbell-Walsh Urology Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. 1. Tenth edition ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2012. p. 1871-95.
11. Stothers L, Friedman B. Risk factors for the development of stress urinary incontinence in women. *Current urology reports*. 2011 Oct;12(5):363-9.
12. Peyrat L, Haillot O, Bruyere F, Boutin JM, Bertrand P, Lanson Y. Prevalence and risk factors of urinary incontinence in young and middle-aged women. *BJU international*. 2002 Jan;89(1):61-6.
13. Brown SJ, Donath S, MacArthur C, McDonald EA, Krastev AH. Urinary incontinence in nulliparous women before and during pregnancy: prevalence, incidence, and associated risk factors. *International urogynecology journal*. 2010 Feb;21(2):193-202.

14. Wesnes SL, Rortveit G, Bo K, Hunskaar S. Urinary incontinence during pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2007 Apr;109(4):922-8.
15. Rortveit G, Daltveit AK, Hannestad YS, Hunskaar S. Urinary Incontinence after Vaginal Delivery or Cesarean Section. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(10):900-7.
16. Thom DH, Rortveit G. Prevalence of postpartum urinary incontinence: a systematic review. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 2010 Dec;89(12):1511-22.
17. Grady D, Brown JS, Vittinghoff E, Applegate W, Varner E, Snyder T. Postmenopausal hormones and incontinence: the Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study. *Obstetrics and gynecology*. 2001 Jan;97(1):116-20.
18. Steinauer JE, Waetjen LE, Vittinghoff E, Subak LL, Hulley SB, Grady D, et al. Postmenopausal hormone therapy: does it cause incontinence? *Obstetrics and gynecology*. 2005 Nov;106(5 Pt 1):940-5.
19. Hendrix SL, Cochrane BB, Nygaard IE, Handa VL, Barnabei VM, Iglesia C, et al. Effects of estrogen with and without progestin on urinary incontinence. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2005 Feb 23;293(8):935-48.
20. Subak LL, Richter HE, Hunskaar S. Obesity and urinary incontinence: epidemiology and clinical research update. *The Journal of urology*. 2009 Dec;182(6 Suppl):S2-7.
21. Altman D, Granath F, Cnattingius S, Falconer C. Hysterectomy and risk of stress-urinary-incontinence surgery: nationwide cohort study. *Lancet*. 2007 Oct 27;370(9597):1494-9.
22. Chen B, Wen Y, Zhang Z, Guo Y, Warrington JA, Polan ML. Microarray analysis of differentially expressed genes in vaginal tissues from women with stress urinary incontinence compared with asymptomatic women. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2006 Jan;21(1):22-9.
23. Dooley Y, Kenton K, Cao G, Luke A, Durazo-Arvizu R, Kramer H, et al. Urinary incontinence prevalence: results from the National Health and Nutrition Examination Survey. *The Journal of urology*. 2008 Feb;179(2):656-61.
24. Fenner DE, Trowbridge ER, Patel DA, Fultz NH, Miller JM, Howard D, et al. Establishing the prevalence of incontinence study: racial differences in women's patterns of urinary incontinence. *The Journal of urology*. 2008 Apr;179(4):1455-60.
25. Rovner ES, Wein AJ. Treatment options for stress urinary incontinence. *Reviews in urology*. 2004;6 Suppl 3:S29-47.
26. Oliveira R, Botelho F, Silva P, Resende A, Silva C, Dinis P, et al. Exploratory study assessing efficacy and complications of TVT-O, TVT-Secur, and Mini-Arc: results at 12-month follow-up. *European urology*. 2011 Jun;59(6):940-4.
27. Feifer A, Corcos J. The use of synthetic sub-urethral slings in the treatment of female stress urinary incontinence. *International urogynecology journal and pelvic floor dysfunction*. 2007 Sep;18(9):1087-95.
28. Lin G, Shindel AW, Banie L, Deng D, Wang G, Hayashi N, et al. Molecular mechanisms related to parturition-induced stress urinary incontinence. *European urology*. 2009 May;55(5):1213-22.

29. Kushner L, Mathrubutham M, Burney T, Greenwald R, Badlani G. Excretion of collagen derived peptides is increased in women with stress urinary incontinence. *Neurourology and urodynamics*. 2004;23(3):198-203.
30. Wennberg AL, Altman D, Lundholm C, Klint A, Iliadou A, Peeker R, et al. Genetic influences are important for most but not all lower urinary tract symptoms: a population-based survey in a cohort of adult Swedish twins. *European urology*. 2011 Jun;59(6):1032-8.
31. Mushkat Y, Bukovsky I, Langer R. Female urinary stress incontinence--does it have familial prevalence? *American journal of obstetrics and gynecology*. 1996 Feb;174(2):617-9.
32. Elia G. Familial incidence of urinary incontinence. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;187(1):53-5.
33. Hannestad YS, Lie RT, Rortveit G, Hunskaar S. Familial risk of urinary incontinence in women: population based cross sectional study. *BMJ (Clinical research ed)*. 2004 Oct 16;329(7471):889-91.
34. Altman D, Forsman M, Falconer C, Lichtenstein P. Genetic influence on stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse. *European urology*. 2008 Oct;54(4):918-22.
35. Buchsbaum GM, Duecy EE, Kerr LA, Huang LS, Guzick DS. Urinary incontinence in nulliparous women and their parous sisters. *Obstetrics and gynecology*. 2005 Dec;106(6):1253-8.
36. Rohr G, Kragstrup J, Gaist D, Christensen K. Genetic and environmental influences on urinary incontinence: a Danish population-based twin study of middle-aged and elderly women. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2004 Oct;83(10):978-82.
37. Norton P, Milsom I. Genetics and the lower urinary tract. *Neurourology and urodynamics*. 2010 Apr;29(4):609-11.
38. Kerkhof MH, Hendriks L, Brolmann HA. Changes in connective tissue in patients with pelvic organ prolapse--a review of the current literature. *International urogynecology journal and pelvic floor dysfunction*. 2009 Apr;20(4):461-74.
39. Moalli PA, Shand SH, Zyczynski HM, Gordy SC, Meyn LA. Remodeling of vaginal connective tissue in patients with prolapse. *Obstetrics and gynecology*. 2005 Nov;106(5 Pt 1):953-63.
40. Carley ME, Schaffer J. Urinary incontinence and pelvic organ prolapse in women with Marfan or Ehlers Danlos syndrome. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2000 May;182(5):1021-3.
41. Romanzi LJ, Chaikin DC, Blaivas JG. The effect of genital prolapse on voiding. *The Journal of urology*. 1999 Feb;161(2):581-6.
42. Gilpin SA, Gosling JA, Smith AR, Warrell DW. The pathogenesis of genitourinary prolapse and stress incontinence of urine. A histological and histochemical study. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1989 Jan;96(1):15-23.
43. Campeau L, Gorbachinsky I, Badlani GH, Andersson KE. Pelvic floor disorders: linking genetic risk factors to biochemical changes. *BJU international*. 2011 Oct;108(8):1240-7.

44. Chen BH, Wen Y, Li H, Polan ML. Collagen metabolism and turnover in women with stress urinary incontinence and pelvic prolapse. *International urogynecology journal and pelvic floor dysfunction*. 2002;13(2):80-7; discussion 7.
45. Fleischmajer R, Perlish JS, Burgeson RE, Shaikh-Bahai F, Timpl R. Type I and type III collagen interactions during fibrillogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1990;580:161-75.
46. Birk DE, Fitch JM, Babiarz JP, Doane KJ, Linsenmayer TF. Collagen fibrillogenesis in vitro: interaction of types I and V collagen regulates fibril diameter. *Journal of cell science*. 1990 Apr;95 (Pt 4):649-57.
47. Chen Y, DeSautel M, Anderson A, Badlani G, Kushner L. Collagen synthesis is not altered in women with stress urinary incontinence. *Neurourology and urodynamics*. 2004;23(4):367-73.
48. Rechberger T, Postawski K, Jakowicki JA, Gunja-Smith Z, Woessner JF, Jr. Role of fascial collagen in stress urinary incontinence. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1998 Dec;179(6 Pt 1):1511-4.
49. Ulmsten U, Ekman G, Gierth G, Malmstrom A. Different biochemical composition of connective tissue in continent and stress incontinent women. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 1987;66(5):455-7.
50. Keane DP, Sims TJ, Abrams P, Bailey AJ. Analysis of collagen status in premenopausal nulliparous women with genuine stress incontinence. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1997 Sep;104(9):994-8.
51. Falconer C, Ekman G, Malmstrom A, Ulmsten U. Decreased collagen synthesis in stress-incontinent women. *Obstetrics and gynecology*. 1994 Oct;84(4):583-6.
52. Bergman A, Elia G, Cheung D, Perelman N, Nimni ME. Biochemical composition of collagen in continent and stress urinary incontinent women. *Gynecologic and obstetric investigation*. 1994;37(1):48-51.
53. Liapis A, Bakas P, Pafiti A, Frangos-Plemenos M, Arnoyannaki N, Creatsas G. Changes of collagen type III in female patients with genuine stress incontinence and pelvic floor prolapse. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2001 Jul;97(1):76-9.
54. Song Y, Hong X, Yu Y, Lin Y. Changes of collagen type III and decorin in paraurethral connective tissue from women with stress urinary incontinence and prolapse. *International urogynecology journal and pelvic floor dysfunction*. 2007 Dec;18(12):1459-63.
55. Trabucco E, Soderberg M, Cobellis L, Torella M, Bystrom B, Ekman-Ordeberg G, et al. Role of proteoglycans in the organization of periurethral connective tissue in women with stress urinary incontinence. *Maturitas*. 2007 Dec 20;58(4):395-405.
56. Liapis A, Bakas P, Pafiti A, Hassiakos D, Frangos-Plemenos M, Creatsas G. Changes in the quantity of collagen type I in women with genuine stress incontinence. *Urological research*. 2000 Oct;28(5):323-6.
57. Bailey AJ, Paul RG, Knott L. Mechanisms of maturation and ageing of collagen. *Mechanisms of ageing and development*. 1998 Dec 1;106(1-2):1-56.

58. Sioutis D, Economou E, Lambrinoudaki I, Tsamadias V, Creatsa M, Liapis A. Sp1 collagen I A1 polymorphism in women with stress urinary incontinence. *International urogynecology journal*. 2011 Jul;22(7):835-9.
59. Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nature genetics*. 1996 Oct;14(2):203-5.
60. Ottani V, Martini D, Franchi M, Ruggeri A, Raspanti M. Hierarchical structures in fibrillar collagens. *Micron (Oxford, England : 1993)*. 2002;33(7-8):587-96.
61. Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, et al. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *The Journal of clinical investigation*. 2001 Apr;107(7):899-907.
62. Skorupski P, Krol J, Starega J, Adamiak A, Jankiewicz K, Rechberger T. An alpha-1 chain of type I collagen Sp1-binding site polymorphism in women suffering from stress urinary incontinence. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006 Feb;194(2):346-50.
63. Bakas PG, Liapis AE, Zervolea I, Voutsinas G, Kletsas D, Creatsas G. mRNA assessment for procollagen production in women with genuine stress urinary incontinence. *International urogynecology journal and pelvic floor dysfunction*. 2004 Nov-Dec;15(6):429-31; discussion 31.
64. Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1991 May;5(8):2145-54.
65. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *European journal of cell biology*. 1997 Oct;74(2):111-22.
66. Chen B, Yeh J. Alterations in connective tissue metabolism in stress incontinence and prolapse. *The Journal of urology*. 2011 Nov;186(5):1768-72.
67. Jackson SR, Avery NC, Tarlton JF, Eckford SD, Abrams P, Bailey AJ. Changes in metabolism of collagen in genitourinary prolapse. *Lancet*. 1996 Jun 15;347(9016):1658-61.
68. Chen B, Wen Y, Wang H, Polan ML. Differences in estrogen modulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-1 expression in cultured fibroblasts from continent and incontinent women. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003 Jul;189(1):59-65.
69. Wen Y, Man WC, Sokol ER, Polan ML, Chen BH. Is alpha2-macroglobulin important in female stress urinary incontinence? *Human reproduction (Oxford, England)*. 2008 Feb;23(2):387-93.
70. Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. Elastic fibres. *Journal of cell science*. 2002 Jul 15;115(Pt 14):2817-28.
71. Liu X, Zhao Y, Pawlyk B, Damaser M, Li T. Failure of elastic fiber homeostasis leads to pelvic floor disorders. *The American journal of pathology*. 2006 Feb;168(2):519-28.

72. Danielson KG, Baribault H, Holmes DF, Graham H, Kadler KE, Iozzo RV. Targeted disruption of decorin leads to abnormal collagen fibril morphology and skin fragility. *The Journal of cell biology*. 1997 Feb 10;136(3):729-43.
73. Chakravarti S, Magnuson T, Lass JH, Jepsen KJ, LaMantia C, Carroll H. Lumican regulates collagen fibril assembly: skin fragility and corneal opacity in the absence of lumican. *The Journal of cell biology*. 1998 Jun 1;141(5):1277-86.
74. Svensson L, Aszodi A, Reinholt FP, Fassler R, Heinegard D, Oldberg A. Fibromodulin-null mice have abnormal collagen fibrils, tissue organization, and altered lumican deposition in tendon. *The Journal of biological chemistry*. 1999 Apr 2;274(14):9636-47.
75. Trask BC, Trask TM, Broekelmann T, Mecham RP. The microfibrillar proteins MAGP-1 and fibrillin-1 form a ternary complex with the chondroitin sulfate proteoglycan decorin. *Molecular biology of the cell*. 2000 May;11(5):1499-507.
76. Yamamoto K, Yamamoto M, Akazawa K, Tajima S, Wakimoto H, Aoyagi M. Decrease in elastin gene expression and protein synthesis in fibroblasts derived from cardinal ligaments of patients with prolapsed uteri. *Cell biology international*. 1997 Sep;21(9):605-11.
77. Goepel C, Thomssen C. Changes in the extracellular matrix in periurethral tissue of women with stress urinary incontinence. *Acta histochemica*. 2006;108(6):441-5.
78. Chen B, Wen Y, Yu X, Polan ML. The role of neutrophil elastase in elastin metabolism of pelvic tissues from women with stress urinary incontinence. *Neurourology and urodynamics*. 2007;26(2):274-9.
79. Chen B, Wen Y, Polan ML. Elastolytic activity in women with stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse. *Neurourology and urodynamics*. 2004;23(2):119-26.
80. Soderberg MW, Bystrom B, Hammarstrom M, Malmstrom A, Ekman-Ordeberg G. Decreased gene expression of fibrillin-1 in stress urinary incontinence. *Neurourology and urodynamics*. 2010 Mar;29(3):476-81.
81. Soderberg MW, Bystrom B, Kalamajski S, Malmstrom A, Ekman-Ordeberg G. Gene expressions of small leucine-rich repeat proteoglycans and fibulin-5 are decreased in pelvic organ prolapse. *Molecular human reproduction*. 2009 Apr;15(4):251-7.
82. Kagan HM, Li W. Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell. *Journal of cellular biochemistry*. 2003 Mar 1;88(4):660-72.
83. Liu X, Zhao Y, Gao J, Pawlyk B, Starcher B, Spencer JA, et al. Elastic fiber homeostasis requires lysyl oxidase-like 1 protein. *Nature genetics*. 2004 Feb;36(2):178-82.
84. Alarab M, Bortolini MA, Drutz H, Lye S, Shynlova O. LOX family enzymes expression in vaginal tissue of premenopausal women with severe pelvic organ prolapse. *International urogynecology journal*. 2010 Nov;21(11):1397-404.
85. Klutke J, Ji Q, Campeau J, Starcher B, Felix JC, Stanczyk FZ, et al. Decreased endopelvic fascia elastin content in uterine prolapse. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2008;87(1):111-5.
86. Klutke J, Stanczyk FZ, Ji Q, Campeau JD, Klutke CG. Suppression of lysyl oxidase gene expression by methylation in pelvic organ prolapse. *International urogynecology journal*. 2010 Jul;21(7):869-72.

87. Ozbek E, Polat EC, Ozcan L, Otunctemur A, Emrence Z, Ustek D. TT polymorphism in rs2165241 and rs1048661 region in lysyl oxidase like-1 gene may have a role in stress urinary incontinence physiopathology. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2013 Jan;39(1):237-42.
88. Drewes PG, Yanagisawa H, Starcher B, Hornstra I, Csiszar K, Marinis SI, et al. Pelvic organ prolapse in fibulin-5 knockout mice: pregnancy-induced changes in elastic fiber homeostasis in mouse vagina. *The American journal of pathology*. 2007 Feb;170(2):578-89.
89. Allen-Brady K, Norton PA, Farnham JM, Teerlink C, Cannon-Albright LA. Significant linkage evidence for a predisposition gene for pelvic floor disorders on chromosome 9q21. *American journal of human genetics*. 2009 May;84(5):678-82.
90. Bukovsky A, Copas P, Caudle MR, Cekanova M, Dassanayake T, Asbury B, et al. Abnormal expression of p27kip1 protein in levator ani muscle of aging women with pelvic floor disorders - a relationship to the cellular differentiation and degeneration. *BMC clinical pathology*. 2001;1(1):4.
91. Kerr LA. Bulking agents in the treatment of stress urinary incontinence: history, outcomes, patient populations, and reimbursement profile. *Reviews in urology*. 2005;7 Suppl 1:S3-S11.
92. Deng DY, Rutman M, Raz S, Rodriguez LV. Presentation and management of major complications of midurethral slings: Are complications under-reported? *Neurourology and urodynamics*. 2007;26(1):46-52.
93. Nikolavasky D, Stangel-Wojcikiewicz K, Stec M, Chancellor MB. Stem cell therapy: a future treatment of stress urinary incontinence. *Seminars in reproductive medicine*. 2011 Jan;29(1):61-70.
94. Aboushwareb T, McKenzie P, Wezel F, Southgate J, Badlani G. Is tissue engineering and biomaterials the future for lower urinary tract dysfunction (LUTD)/pelvic organ prolapse (POP)? *Neurourology and urodynamics*. 2011 Jun;30(5):775-82.
95. Chancellor MB, Yokoyama T, Tirney S, Mattes CE, Ozawa H, Yoshimura N, et al. Preliminary results of myoblast injection into the urethra and bladder wall: a possible method for the treatment of stress urinary incontinence and impaired detrusor contractility. *Neurourology and urodynamics*. 2000;19(3):279-87.
96. Yokoyama T, Yoshimura N, Dhir R, Qu Z, Fraser MO, Kumon H, et al. Persistence and survival of autologous muscle derived cells versus bovine collagen as potential treatment of stress urinary incontinence. *The Journal of urology*. 2001 Jan;165(1):271-6.

ANEXOS

Normas de publicação da revista “Arquivos de Medicina”.

Monografia realizada de acordo com as normas, exceto relativamente à dimensão máxima de palavras, a qual será ajustada aquando da submissão do artigo.

Instruções aos Autores

Estas instruções seguem os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (disponível em URL: www.icmje.org).

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam investigação original nas diferentes áreas da medicina, favorecendo investigação de qualidade, particularmente a que descreva a realidade nacional.

Os manuscritos são avaliados inicialmente por membros do corpo editorial e a publicação daqueles que forem considerados adequados fica dependente do parecer técnico de pelo menos dois revisores externos. A revisão é feita anonimamente, podendo os revisores propor, por escrito, alterações de conteúdo ou de forma ao(s) autor(es), condicionando a publicação do artigo à sua efectivação.

Todos os artigos solicitados serão submetidos a avaliação externa e seguirão o mesmo processo editorial dos artigos de investigação original.

Apesar dos editores e dos revisores desenvolverem os esforços necessários para assegurar a qualidade técnica e científica dos manuscritos publicados, a responsabilidade final do conteúdo das publicações é dos autores.

Todos os artigos publicados passam a ser propriedade dos ARQUIVOS DE MEDICINA. Uma vez aceites, os manuscritos não podem ser publicados numa forma semelhante noutros locais, em nenhuma língua, sem o consentimento dos ARQUIVOS DE MEDICINA.

Apenas serão avaliados manuscritos contendo material original que não estejam ainda publicados, na íntegra ou em parte (incluindo tabelas e figuras), e que não estejam a ser submetidos para publicação noutros locais. Esta restrição não se aplica a notas de imprensa ou a resumos publicados no âmbito de reuniões científicas. Quando existem publicações semelhantes à que é submetida ou quando existirem dúvidas relativamente ao cumprimento dos critérios acima mencionados estas devem ser anexadas ao manuscrito em submissão.

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

De acordo com uma avaliação efectuada sobre o material apresentado à revista os editores dos ARQUIVOS DE MEDICINA prevêm publicar aproximadamente 30% dos manuscritos submetidos, sendo que cerca de 25% serão provavelmente rejeitados pelos editores no primeiro mês após a recepção sem avaliação externa.

TIPOLOGIA DOS ARTIGOS PUBLICADOS NOS ARQUIVOS DE MEDICINA

Artigos de investigação original

Resultados de investigação original, qualitativa ou quantitativa.

O texto deve ser limitado a 2000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 4 tabelas e/ou figuras (total) e até 15 referências.

Todos os artigos de investigação original devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Publicações breves

Resultados preliminares ou achados novos podem ser objecto de publicações breves.

O texto deve ser limitado a 1000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As publicações breves devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Artigos de revisão

Artigos de revisão sobre temas das diferentes áreas da medicina e dirigidos aos profissionais de saúde, particularmente com impacto na sua prática.

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam essencialmente artigos de revisão solicitados pelos editores. Contudo, também serão avaliados artigos de revisão submetidos sem solicitação prévia, preferencialmente revisões quantitativas (Meta-análise).

O texto deve ser limitado a 5000 palavras, excluindo referências e tabelas, e apresentar um máximo de 5 tabelas e/ou figuras (total). As revisões quantitativas devem ser organizadas em introdução, métodos, resultados e discussão.

As revisões devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada, devendo ser estruturados no caso das revisões quantitativas.

Comentários

Comentários, ensaios, análises críticas ou declarações de posição acerca de tópicos de interesse na área da saúde, designadamente políticas de saúde e educação médica.

O texto deve ser limitado a 900 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

Os comentários não devem apresentar resumos.

Casos clínicos

Os ARQUIVOS DE MEDICINA transcrevem casos publicamente apresentados trimestralmente pelos médicos do Hospital de S. João numa selecção acordada com o corpo editorial da revista. No entanto é bem vinda a descrição de casos clínicos verdadeiramente exemplares, profundamente estudados e discutidos. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

Os casos clínicos devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 120 palavras cada.

Séries de casos

Descrições de séries de casos, tanto numa perspectiva de tratamento estatístico como de reflexão sobre uma experiência particular de diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As séries de casos devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Cartas ao editor

Comentários sucintos a artigos publicados nos ARQUIVOS DE MEDICINA ou relatando de forma muito objectiva os resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem um tratamento mais elaborado.

O texto deve ser limitado a 400 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

As cartas ao editor não devem apresentar resumos.

Revisões de livros ou software

Revisões críticas de livros, software ou sítios da internet.

O texto deve ser limitado a 600 palavras, sem tabelas nem figuras, com um máximo de 3 referências, incluindo a do objecto da revisão.

As revisões de livros ou software não devem apresentar resumos.

FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A formatação dos artigos submetidos para publicação nos ARQUIVOS DE MEDICINA deve seguir os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals".

Todo o manuscrito, incluindo referências, tabelas e legendas de figuras, deve ser redigido a dois espaços, com letra a 11 pontos, e justificado à esquerda.

Aconselha-se a utilização das letras Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, e Symbol para caracteres especiais.

Devem ser numeradas todas as páginas, incluindo a página do título.

Devem ser apresentadas margens com 2,5 cm em todo o manuscrito. Devem ser inseridas quebras de página entre cada secção.

Não devem ser inseridos cabeçalhos nem rodapés.

Deve ser evitada a utilização não técnica de termos estatísticos como aleatório, normal, significativo, correlação e amostra.

Apenas será efectuada a reprodução de citações, tabelas ou ilustrações de fontes sujeitas a direitos de autor com citação completa da fonte e com autorizações do detentor dos direitos de autor.

Unidades de medida

Devem ser utilizadas as unidades de medida do Sistema Internacional (SI), mas os editores podem solicitar a apresentação de outras unidades não pertencentes ao SI.

Abreviaturas

Devem ser evitados acrónimos e abreviaturas, especialmente no título e nos resumos. Quando for necessária a sua utilização devem ser definidos na primeira vez que são mencionados no texto e também nos resumos e em cada tabela e figura, excepto no caso das unidades de medida.

Nomes de medicamentos

Deve ser utilizada a Designação Comum Internacional (DCI) de fármacos em vez de nomes comerciais de medicamentos. Quando forem utilizadas marcas registadas na investigação, pode ser mencionado o nome do medicamento e o nome do laboratório entre parêntesis.

Página do título

Na primeira página do manuscrito deve constar:

- 1) o título (conciso e descritivo);
- 2) um título abreviado (com um máximo de 40 caracteres, incluindo espaços);
- 3) os nomes dos autores, incluindo o primeiro nome (não incluir graus académicos ou títulos honoríficos);
- 4) a filiação institucional de cada autor no momento em que o trabalho foi realizado;
- 5) o nome e contactos do autor que deverá receber a correspondência, incluindo endereço, telefone, fax e e-mail;
- 6) os agradecimentos, incluindo fontes de financiamento, bolsas de estudo e colaboradores que não cumpram critérios para autoria;
- 7) contagens de palavras separadamente para cada um dos resumos e para o texto principal (não incluindo referências, tabelas ou figuras).

Autoria

Como referido nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals", a autoria requer uma contribuição substancial para:

- 1) concepção e desenho do estudo, ou obtenção dos dados, ou análise e interpretação dos dados;
- 2) redacção do manuscrito ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual;
- 3) aprovação final da versão submetida para publicação.

A obtenção de financiamento, a recolha de dados ou a supervisão geral do grupo de trabalho, por si só, não justificam autoria.

É necessário especificar na carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho. Esta informação será publicada.

Exemplo: José Silva concebeu o estudo e supervisionou todos os aspectos da sua implementação. António Silva colaborou na concepção do estudo e efectuou a análise dos dados. Manuel Silva efectuou a recolha de dados e colaborou na sua análise. Todos os autores contribuíram para a interpretação dos resultados e revisão dos rascunhos do manuscrito.

Nos manuscritos assinados por mais de 6 autores (3 autores no caso das cartas ao editor), tem que ser explicitada a razão de uma autoria tão alargada.

É necessária a aprovação de todos os autores, por escrito, de quaisquer modificações da autoria do artigo após a sua submissão.

Agradecimentos

Devem ser mencionados na secção de agradecimentos os colaboradores que contribuíram substancialmente para o trabalho mas que não cumpram os critérios para autoria, especificando o seu contributo, bem como as fontes de financiamento, incluindo bolsas de estudo.

Resumos

Os resumos de artigos de investigação original, publicações breves, revisões quantitativas e séries de casos devem ser estruturados (introdução, métodos, resultados e conclusões) e apresentar conteúdo semelhante ao do manuscrito.

Os resumos de manuscritos não estruturados (revisões não quantitativas e casos clínicos) também não devem ser estruturados.

Nos resumos não devem ser utilizadas referências e as abreviaturas devem ser limitadas ao mínimo.

Palavras-chave

Devem ser indicadas até seis palavras-chave, em português e em inglês, nas páginas dos resumos, preferencialmente em concordância com o Medical Subject Headings (MeSH) utilizado no Index Medicus. Nos manuscritos que não apresentam resumos as palavras-chave devem ser apresentadas no final do manuscrito.

Introdução

Deve mencionar os objectivos do trabalho e a justificação para a sua realização.

Nesta secção apenas devem ser efectuadas as referências indispensáveis para justificar os objectivos do estudo.

Métodos

Nesta secção devem descrever-se:

- 1) a amostra em estudo;
- 2) a localização do estudo no tempo e no espaço;
- 3) os métodos de recolha de dados;
- 4) análise dos dados.

As considerações éticas devem ser efectuadas no final desta secção.

Análise dos dados

Os métodos estatísticos devem ser descritos com o detalhe suficiente para que possa ser possível reproduzir os resultados apresentados.

Sempre que possível deve ser quantificada a imprecisão das estimativas apresentadas, designadamente através da apresentação de intervalos de confiança. Deve evitar-se uma utilização excessiva de testes de hipóteses, com o uso de valores de p, que não fornecem informação quantitativa importante.

Deve ser mencionado o software utilizado na análise dos dados.

Considerações éticas e consentimento informado

Os autores devem assegurar que todas as investigações envolvendo seres humanos foram aprovadas por comissões de ética das instituições em que a investigação tenha sido desenvolvida, de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial (www.wma.net).

Na secção de métodos do manuscrito deve ser mencionada esta aprovação e a obtenção de consentimento informado, quando aplicável.

Resultados

Os resultados devem ser apresentados, no texto, tabelas e figuras, seguindo uma sequência lógica.

Não deve ser fornecida informação em duplicado no texto e nas tabelas ou figuras, bastando descrever as principais observações referidas nas tabelas ou figuras.

Independentemente da limitação do número de figuras propostos para cada tipo de artigo, só devem ser apresentados gráficos quando da sua utilização resultarem claros benefícios para a compreensão dos resultados.

Apresentação de dados numéricos

A precisão numérica utilizada na apresentação dos resultados não deve ser superior à permitida pelos instrumentos de avaliação.

Para variáveis quantitativas as medidas apresentadas não deverão ter mais do que uma casa decimal do que os dados brutos.

As proporções devem ser apresentadas com apenas uma casa decimal e no caso de amostras pequenas não devem ser apresentadas casas decimais.

Os valores de estatísticas teste, como t ou χ^2 , e os coeficientes de correlação devem ser apresentados com um máximo de duas casas decimais.

Os valores de p devem ser apresentados com um ou dois algarismos significativos e nunca na forma de p=NS, p<0,05 ou p>0,05, na medida em que a informação contida no valor de P pode ser importante. Nos casos em

que o valor de p é muito pequeno (inferior a 0,0001), pode apresentar-se como $p < 0,0001$.

Tabelas e figuras

As tabelas devem surgir após as referências. As figuras devem surgir após as tabelas.

Devem ser mencionadas no texto todas as tabelas e figuras, numeradas (numeração árabe separadamente para tabelas e figuras) de acordo com a ordem em que são discutidas no texto.

Cada tabela ou figura deve ser acompanhada de um título e notas explicativas (ex. definições de abreviaturas) de modo a serem compreendidas e interpretadas sem recurso ao texto do manuscrito.

Para as notas explicativas das tabelas ou figuras devem ser utilizados os seguintes símbolos, nesta mesma sequência:

*, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡.

Cada tabela ou figura deve ser apresentada em páginas separadas, juntamente com o título e as notas explicativas.

Nas tabelas devem ser utilizadas apenas linhas horizontais.

As figuras, incluindo gráficos, mapas, ilustrações, fotografias ou outros materiais devem ser criadas em computador ou produzidas profissionalmente.

As figuras devem incluir legendas.

Os símbolos, setas ou letras devem contrastar com o fundo de fotografias ou ilustrações.

A dimensão das figuras é habitualmente reduzida à largura de uma coluna, pelo que as figuras e o texto que as acompanha devem ser facilmente legíveis após redução.

Na primeira submissão do manuscrito não devem ser enviados originais de fotografias, ilustrações ou outros materiais como películas de raios-X. As figuras, criadas em computador ou convertidas em formato electrónico após digitalização devem ser inseridas no ficheiro do manuscrito.

Uma vez que a impressão final será a preto e branco ou em tons de cinzento, os gráficos não deverão ter cores. Gráficos a três dimensões apenas serão aceites em situações excepcionais.

A resolução de imagens a preto e branco deve ser de pelo menos 1200 dpi e a de imagens com tons de cinzento ou a cores deve ser de pelo menos 300 dpi.

As legendas, símbolos, setas ou letras devem ser inseridas no ficheiro da imagem das fotografias ou ilustrações.

Os custos da publicação das figuras a cores serão suportados pelos autores.

Em caso de aceitação do manuscrito, serão solicitadas as figuras nos formatos mais adequados para a produção da revista.

Discussão

Na discussão não deve ser repetida detalhadamente a informação fornecida na secção dos resultados, mas devem ser discutidas as limitações do estudo, a relação dos resultados obtidos com o observado noutras investigações e devem ser evidenciados os aspectos inovadores do estudo e as conclusões que deles resultam.

É importante que as conclusões estejam de acordo com os objectivos do estudo, mas devem ser evitadas afirmações e conclusões que não sejam completamente apoiadas pelos resultados da investigação em causa.

Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas consecutivamente de acordo com a ordem da sua citação. Os números das referências devem ser apresentados entre parentesis. Não deve ser utilizado software para numeração automática das referências.

Pode ser encontrada nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" uma descrição pormenorizada do formato dos diferentes tipos de referências, de que se acrescentam alguns exemplos:

1. Artigo

• Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increase risk for pancreaticobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

2. Artigo com Organização como Autor

• The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 64:282-4.

3. Artigo publicado em Volume com Suplemento

• Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.

4. Artigo publicado em Número com Suplemento

payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23 (1 Suppl 2):89-97.

5. Livro

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.

6. Livro (Editor(s) como Autor(es))

Norman IJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone;1996.

7. Livro (Organização como Autor e Editor)

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute;1992.

8. Capítulo de Livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press;1995. p. 465-78.

9. Artigo em Formato Electrónico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1 (1): [24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Devem ser utilizados os nomes abreviados das publicações, de acordo com o adoptado pelo Index Medicus. Uma lista de publicações pode ser obtida em <http://www.nlm.nih.gov>.

Deve ser evitada a citação de resumos e comunicações pessoais.

Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais.

Anexos

Material muito extenso para a publicação com o manuscrito, designadamente tabelas muito extensas ou instrumentos de recolha de dados, poderá ser solicitado aos autores para que seja fornecido a pedido dos interessados.

Conflitos de interesse

Os autores de qualquer manuscrito submetido devem revelar no momento da submissão a existência de conflitos de interesse ou declarar a sua inexistência.

Essa informação será mantida confidencial durante a revisão do manuscrito pelos avaliadores externos e não influenciará a decisão editorial mas será publicada se o artigo for aceite.

Autorizações

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores devem ter em sua posse os seguintes documentos que poderão ser solicitados pelo corpo editorial:

- consentimento informado de cada participante;
- consentimento informado de cada indivíduo presente em fotografias, mesmo quando forem efectuadas tentativas de ocultar a respectiva identidade;
- transferência de direitos de autor de imagens ou ilustrações;
- autorizações para utilização de material previamente publicado;
- autorizações dos colaboradores mencionados na secção de agradecimentos.

SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos aos ARQUIVOS DE MEDICINA devem ser preparados de acordo com as recomendações acima indicadas e devem ser acompanhados de uma carta de apresentação.

Carta de apresentação

Deve incluir a seguinte informação:

- 1) Título completo do manuscrito;
- 2) Nomes dos autores com especificação do contributo de cada um para o manuscrito;
- 3) Justificação de um número elevado de autores, quando aplicável;
- 4) Tipo de artigo, de acordo com a classificação dos ARQUIVOS DE MEDICINA;
- 5) Fontes de financiamento, incluindo bolsas;
- 6) Revelação de conflitos de interesse ou declaração da sua ausência;
- 7) Declaração de que o manuscrito não foi ainda publicado, na íntegra ou em parte, e que nenhuma versão do manuscrito está a ser avaliada por outra revista;
- 8) Declaração de que todos os autores aprovaram a versão do manuscrito que está a ser submetida;
- 9) Assinatura de todos os autores.

É dada preferência à submissão dos manuscritos por e-mail (submit@arquivosdemedicina.org).

O manuscrito e a carta de apresentação devem, neste caso, ser enviados em ficheiros separados em formato word. Deve ser enviada por fax (225074374) uma cópia da carta de apresentação assinada por todos os autores.

Se não for possível efectuar a submissão por e-mail esta pode ser efectuada por correio para o seguinte endereço:

ARQUIVOS DE MEDICINA
Faculdade de Medicina do Porto
Alameda Prof. Hernâni Monteiro
4200 – 319 Porto, Portugal

Os manuscritos devem, então, ser submetidos em triplicado (1 original impresso apenas numa das páginas e 2 cópias com impressão frente e verso), acompanhados da carta de apresentação.

Os manuscritos rejeitados ou o material que os acompanha não serão devolvidos, excepto quando expressamente solicitado no momento da submissão.

CORRECÇÃO DOS MANUSCRITOS

A aceitação dos manuscritos relativamente aos quais forem solicitadas alterações fica condicionada à sua realização.

A versão corrigida do manuscrito deve ser enviada com as alterações sublinhadas para facilitar a sua verificação e deve ser acompanhada duma carta respondendo a cada um dos comentários efectuados.

Os manuscritos só poderão ser considerados aceites após confirmação das alterações solicitadas.

MANUSCRITOS ACEITES

Uma vez comunicada a aceitação dos manuscritos, deve ser enviada a sua versão final em ficheiro de Word®, formatada de acordo com as instruções acima indicadas.

No momento da aceitação os autores serão informados acerca do formato em que devem ser enviadas as figuras.

A revisão das provas deve ser efectuada e aprovada por todos os autores dentro de três dias úteis. Nesta fase apenas se aceitam modificações que decorram da correcção de gralhas.

Deve ser enviada uma declaração de transferência de direitos de autor para os ARQUIVOS DE MEDICINA, assinada por todos os autores, juntamente com as provas corrigidas.